

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790474

研究課題名（和文） 女性ホルモンによる胃発癌抑制機構の解析

研究課題名（英文） protective effects of female hormones on gastric carcinogenesis

研究代表者

大谷 昌弘（OHTANI MASAHIRO）

福井大学・医学部・助教

研究者番号：20372500

研究成果の概要：ヘリコバクター・ピロリ菌感染胃発癌マウスモデルを用いて女性ホルモン（エストロゲン）による胃炎および胃発癌抑制機序の検討を行った。胃組織におけるサイトカイン発現とピロリ菌に対する血清抗体価の検討からはこれらの免疫学的因子が関与している結果は得られなかった。しかし、ピロリ菌に感染した胃組織においてエストロゲンレセプターの発現低下が示唆され、エストロゲンレセプターの発現が胃発癌機序に影響を与えている可能性が考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2007年度	2,200,000	0	2,200,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総 計	3,200,000	300,000	3,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科臨床医学・消化器内科学

キーワード：胃癌、女性ホルモン、エストロゲンレセプター、ヘリコバクター・ピロリ菌

1. 研究開始当初の背景

(1) 胃癌の発生率は近年減少傾向にあるものの、未だ全世界において癌関連死亡原因の第2位であり、その予防と治療のためには胃発癌機構の解明が必要である。一般に胃癌の罹患率は男性の方が高く、女性の約2倍とされている。疫学的検討では閉経の遅延や更年期障害に対する女性ホルモン補充療法が胃癌のリスクを下げるという報告がなされており、女性ホルモンが胃癌発症において抑制的に働く可能性が示唆されている。

(2) ヘリコバクター・ピロリ菌(*H. pylori*)は慢性胃炎、消化性潰瘍、胃癌などの上部消化器疾患の発症に関与しており、1994年にWHOにより class I の胃癌の危険因子であると認定された。分化型胃癌は *H. pylori* による慢性胃炎、萎縮性胃炎、腸上皮化生、異形成のシーケンスを経て発癌に至ると考えられている。

(3) ガストリントランスジェニックマウス(INS-GAS マウス)は *H. pylori* 感染により分

化型胃癌が発症することが報告されており、ヒトと同様に雄マウスに発生する傾向が認められる。故にこの INS-GAS マウスは胃癌の男女差を研究するために適した動物モデルと考えられ、研究代表者は INS-GAS マウスを用いて胃発癌における女性ホルモンの影響について検討を行い、これまでに①卵巣摘出による外科的な閉経が *H. pylori* 胃炎を増悪させること②卵巣摘出による増悪はエストロゲン投与により抑制されることを報告した。

(4) エストロゲンレセプター α 、 β (ER α , ER β) の胃粘膜組織における発現に関しては未だ一定の見解は得られてはいない。ヒトにおいては ER α と ER β 両方とも発現しているとする報告もあれば、ER β のみとしているものもある。また癌組織と正常組織両方ともに発現しているとされているが、まだ十分に検討されてはいない。

2. 研究の目的

(1) *H. pylori* 感染 INS-GAS マウスにおける胃発癌が女性ホルモンのエストロゲンにより抑制される機序の詳細は明らかではない。これまで報告により、エストロゲンは免疫応答を調節する重要な因子であることが分かっている。これより、胃において女性ホルモンが *H. pylori* 感染に対する免疫応答を調節することにより胃発癌を抑制するという仮説を立てた。

(2) *H. pylori* 感染による胃発癌において、胃組織での ER α , ER β の発現に関してはこれまでに検討されてはいない。

(3) 本研究の目的はマウスモデルを用いて、エストロゲンによる *H. pylori* 胃炎の抑制作用の機序を検討し、発癌機序の一端を解明することである。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

雄の INS-GAS マウスに *H. pylori* 感染を行い、感染 5 ヶ月と 8 ヶ月後に解剖を行い、ER α , ER β の胃組織における発現を検討した。

(2) 実験 2

雌の INS-GAS マウスを下記の通りの 5 群に分類し、*H. pylori* 感染実験を行った。

<グループ>

① 非感染群

② 感染正常群

③ 感染卵巣摘出群

④ 感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群

⑤ 感染卵巣摘出+ER β 作動薬投与群

卵巣摘出 2 週後にマウスに対して *H. pylori* 感染を行い、感染 3 カ月後より感染卵巣摘出群の一部に対して ER α または ER β 作動薬を 2 か月間投与した。感染 5 ヶ月後に解剖を行い、

① 胃組織における ER α , ER β mRNA 発現

② 胃組織における TNF- α mRNA 発現

③ *H. pylori* に対する血清抗体値の測定について検討した。

4. 研究成果

(1) 雄マウスを用いた感染実験ではこれまでの報告と同様に *H. pylori* 感染により胃炎の増強を認めた。また感染 5 ヶ月と 8 ヶ月後の比較では感染 8 ヶ月後の方が胃炎の増悪が認められた。胃組織における ER α mRNA レベルは差が認められなかったが、ER β mRNA レベルは感染 5 ヶ月後、8 ヶ月後の両時期で感染群において低下傾向が認められ、感染期間が長いほど ER β mRNA レベルが低値であった。

雌マウスにおいても *H. pylori* 感染により胃炎の増強を認めた。雌マウスの非感染群と感染正常群での比較では ER β mRNA レベルは雄マウスと同様に感染群で低下している傾向が認められた。一方、ER α mRNA レベルは雄マウスと異なり、感染群で低下していた。

以上より INS-GAS マウスを用いたモデルでは *H. pylori* 感染により ER の発現が低下する可能性が示唆された。これまでにこの様な ER と *H. pylori* 感染の関係に注目した報告はなされておらず、更なる検討により胃炎・胃癌の発症機序の一端を明らかにする可能性がある。

(2) 雌マウスの感染正常群と感染卵巣摘出群の比較では感染卵巣摘出群の方が有意に胃炎の増悪が認められた。なお、卵巣摘出の正確性は子宮重量で判定した。卵巣摘出群では感染正常群と比べて有意に子宮重量が低値であった。

感染正常群と感染卵巣摘出群における ER 発現の比較では、ER α mRNA レベルは両群間で差は認めなかったが、ER β mRNA レベルは感染卵巣摘出群で高い傾向が見られた。この傾向より、胃組織においては ER α よりも ER β の方が key receptor として作用する可能性が考えられる。

乳癌では発癌における ER α , ER β 発現の機序が検討されている。これまでの報告によると発癌と伴に乳腺における ER β 発現の低下が認められており、ER β が乳癌発症に対して予防的に作用していると考えられている。前述した結果より INS-GAS マウスを用いたモデルにおいても同様に ER β が予防的に作用している可能性がある。

(3) 感染卵巣摘出群、感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群と感染卵巣摘出+ER β 作動薬投与群の 3 群間における胃組織の ER α , ER β mRNA レベルの検討では、ER α 作動薬投与群における ER α mRNA レベルが卵巣摘出群と比較して増加していた。一方、ER β 作動薬投与群における ER β mRNA レベルは卵巣摘出群と比較して差は認められなかった。

(4) 胃組織における TNF- α mRNA レベルの検討では、これまでの我々の報告と同様に、非感染群と感染正常群の比較では感染正常群の方が有意に増加していた。一方、感染正常と感染卵巣摘出群との比較では胃炎の程度において差が認められるにもかかわらず、TNF- α mRNA レベルに関して両群間に差は認められなかった。

我々のこれまでの検討では感染正常群と感染卵巣摘出群での胃組織における TNF- α mRNA レベルに関しては感染 7 ヶ月後の時点では有意差は認められたものの、感染 4 ヶ月後においてはまだ差が見られなかった。本研究は 5 カ月の感染実験であることから、前述の結果も含めて考察すると、卵巣摘出による胃炎の増悪に関しては胃組織における TNF- α mRNA レベルは組織学的胃炎の進行より遅れて上昇していることが判明した。IFN- γ や IL-1 β などのその他の炎症性サイトカインでの検討が必要ではあるが、少なくとも TNF- α に関しては、卵巣摘出による胃炎の増悪の原因というよりも、炎症の進行の結果上昇しているものと考えられた。

感染卵巣摘出群、感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群と感染卵巣摘出+ER β 作動薬投与群の 3 群間における胃組織の TNF- α mRNA レベルの検討では、興味深いことに、感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群における値が感染卵巣摘出群と比較して上昇していた。この上昇の理由として考えられるものは、TNF- α 遺伝子のプロモーター領域に 17 β -estradiol と反応する部位がこれまでに指摘されているため、ER α 作動薬がこの機序を介して作用していた可能性が考えられた。

(5) *H. pylori* に対する血清抗体価は pro inflammatory である Th1 反応の isotype とし

て IgG2a を、anti inflammatory である Th2 反応の isotype として IgG1 を ELISA 法を用いて検討した。

H. pylori を感染させたグループのいずれにおいても非感染群と比較して IgG1 および IgG2a 値のいずれも有意に高値であり、いずれの群においても感染が成立していることが確認できた。

感染正常群、感染卵巣摘出群、感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群と感染卵巣摘出+ER β 作動薬投与群の 4 群間における IgG1 および IgG2a 値に関しては、感染正常群と比べて感染卵巣摘出群、感染卵巣摘出+ER α 作動薬投与群と感染卵巣摘出+ER β 作動薬投与群のほうが IgG1 と IgG2a のいずれも若干低値の傾向はあったが、明らかな差は認めなかった。

(6) 胃組織における TNF- α mRNA レベルと血清抗体価の結果からは卵巣摘出による胃炎の増悪にこれらの免疫学的因子が明らかに関与している結果は得られなかった。しかしながら、その他の因子が関与している可能性は十分にあり得る。

本研究において得られた新しい知見としてはマウスモデルにおいて *H. pylori* 感染により胃組織での ER 発現が低下することが示唆された点である。このマウスモデルで確認された女性ホルモンによる胃発癌抑制機序において ER 発現低下が何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。ER 発現の低下が胃炎発症に関しどのような影響を及ぼすのか、またヒトの胃炎においても ER 発現の低下が生じているのかについてはさらなる検討が必要あり、胃発癌機序の解明に繋がるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 1 件)

① 大谷昌弘

「*H. pylori* 感染 INS-GAS マウスの胃発癌における性ホルモンの影響」

第 50 回日本消化器病学会大会
パネルディスカッション
性差からみた消化器疾患の病態と予後

2008 年 10 月 1 日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷 昌弘 (OHTANI MASAHIRO)

福井大学・医学部・助教

研究者番号：20372500